

# ФАРМАКОЛОГИЯ, КЛИНИЧЕСКАЯ ФАРМАКОЛОГИЯ

Ю. С. Букадару<sup>1</sup>, И. И. Заморский<sup>1</sup>, С. В. Колесник<sup>2</sup>

## ВЛИЯНИЕ ПРОИЗВОДНОГО 2-БЕНЗАМИДА-2(2-ОКСОДОЛИН-3-ИЛИДЕН) УКСУСНОЙ КИСЛОТЫ НА МОРФОМЕТРИЧЕСКИЕ И ГИСТОХИМИЧЕСКИЕ ПОКАЗАТЕЛИ СОСТОЯНИЯ ГОЛОВНОГО МОЗГА КРЫС ПРИ ХРОНИЧЕСКОЙ ГИПОБАРИЧЕСКОЙ ГИПОКСИИ

<sup>1</sup>Высшее государственное учебное заведение Украины «Буковинский государственный медицинский университет», г. Черновцы, Украина

<sup>2</sup>Национальный фармацевтический университет, г. Харьков, Украина

*В экспериментах на белых беспородных половозрелых крысах-самцах изучили влияние производного 2-бензамида-2(2-оксодоллин-3-илиден) уксусной кислоты под условным обозначением ZNM на морфометрические и гистохимические показатели состояния коры головного мозга крыс в условиях хронической гипобарической гипоксии. Выявили, что вещество ZNM редуцирует отек головного мозга, уменьшает морфологические признаки поражения головного мозга за счет предупреждения развития нейродеструктивных процессов и патологических изменений в сосудах головного мозга. Положительный антигипоксанта́нный эффект ZNM подтверждается снижением интенсивности окислительной модификации белков. По своей церебро-протекторной активности препарат ZNM не уступает эффекту лекарственного средства сравнения антигипоксанта мексидола.*

*Ключевые слова: хроническая гипобарическая гипоксия, окислительная модификация белков, производные 2-бензамида-2(2-оксодоллин-3-илиден) уксусной кислоты, мексидол.*

### ВВЕДЕНИЕ

Гипоксия – патологическое состояние, возникающее при пониженном содержании кислорода в организме или отдельных тканях и органах, а также при нарушении утилизации кислорода в процессе биологического окисления. Гипоксию называют также кислородным голоданием. Среди природных факторов, воздействующих на организм человека, гипоксия занимает лидирующие позиции. В основном это нормо- или гипобарическая гипоксия, воздействию которых человек подвержен на протяжении всей своей жизни: в период внутриутробного развития плода, при рождении ребенка, при действии физических нагрузок, при патологических процессах в организме (острые травмы, кровопотери, инфаркт миокарда, различные отравления, вирусные и бактериальные инфекции и т.д.). «Гипоксический риск» также повышен в некоторых областях производственной деятельности человека [1].

Гипобарическая гипоксия возникает при понижении парциального давления

кислорода во вдыхаемом воздухе, в условиях разреженной атмосферы. В развитии адаптационных и компенсаторных реакций при гипоксии принимает участие весь организм, наиболее чувствительными к изменениям кислородного снабжения являются головной мозг, печень, почки, что обусловлено особенностями окислительного метаболизма [2].

Общеизвестно, что любой патологический процесс, включая гипоксию, протекает на фоне образования активных форм кислорода и интенсификации свободнорадикального окисления биосубстратов. При этом окислительная модификация белков (ОМБ) рассматривается как один из ранних и наиболее четких маркеров поражения тканей и играет ключевую роль в молекулярных механизмах гипоксического стресса [3, 4].

Для коррекции состояний гипоксического стресса используют группу лекарственных средств под названием антигипоксанты. Они являются средствами, улучшающими усвоение организмом кислорода и снижающими потребность орга-

нов и тканей в нем, тем самым способствуя повышению сопротивляемости организма к кислородной недостаточности. Таким образом, поиск новых эффективных антигипоксантов является актуальной проблемой медицины и фармации [5].

Ранее в проведенных нами скрининговых исследованиях среди производных 2-бензамида-2(2-оксодолин-3-илиден) уксусной кислоты была доказана антигипоксанта́ная активность для некоторых соединений в условиях острой гипобарической гипоксии. Среди исследованных производных наилучший антигипоксанта́ный эффект наблюдался при применении соединения № 15 под условным обозначением ZNM, что позволяет предположить наличие у этого вещества церебропротекторных, нейропротекторных и антиоксидантных свойств [6].

Целью нашего исследования явилось изучение влияния производного 2-бензамидо-2(2-оксоиндолин-3-илиден) уксусной кислоты ZNM на макроскопические, морфологические и гистохимические показатели в головном мозге крыс при хронической гипобарической гипоксии.

## МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Исследования проведены на 32 белых беспородных половозрелых крысах-самцах средней массой 180–200 г. Животных содержали на стандартном сбалансированном пищевом рационе со свободным доступом к воде при постоянной температуре и влажности воздуха в виварии. Все манипуляции проводили в соответствии с Директивой Европейского союза 2010/63/EU о защите животных, используемых в научных целях.

Животных разделили на четыре группы ( $n=8$ ): первую группу составили интактные животные; во второй группе моделировали хроническую гипобарическую гипоксию. В третьей группе – животные с гипоксией, которым вводили исследуемое вещество ZNM, а в четвертой – животные с гипоксией, которым вводили лекарственное средство (ЛС) сравнения мексидол.

Хроническую гипобарическую гипоксию (ХГГ) моделировали в модифицированной проточной барокамере путем имитации подъема крыс на высоту 4000 м над уровнем моря со скоростью подъема 24 км/ч. На этой высоте животных выдерживали в течение 2 часов ежедневно на про-

тяжении 4 недель в светлое время суток. Исследуемые вещества начали вводить на 14 день моделирования хронической гипоксии. Вещество ZNM вводили внутрибрюшинно за 35 мин до моделирования гипоксии в дозе 15 мг/кг в виде водной суспензии, стабилизированной полисорбатом 80 (Твин 80) (AppliChemGmbH, Германия). ЛС сравнения антигипоксанта́ мексидол (этилметилгидроксипиридина сукцинат) (Фармасофт, Россия) вводили в дозе 100 мг/кг. Животным интактной группы вводили эквивалентное количество водной суспензии с полисорбатом 80 [7]. Через 24 часа после окончания гипоксического воздействия осуществляли эвтаназию животных путем декапитации под тиопенталовым (80 мг/кг) наркозом с последующим забором материала для оценки макроскопических и морфологических изменений и гистохимических показателей.

Морфологические исследования гистологических препаратов, окрашенных гематоксилином и эозином, проводили методом компьютерной морфометрии объектов (микроскоп Люмам-Р8, объектив  $\times 10$ , окуляр  $\times 10$ ) с последующей обработкой полученных результатов в среде компьютерной программы «ВидеоТест-Размер 5.0» (ООО «Видеотест», Россия). Для определения степени ОМБ использовали микроспектрофотометрический компьютерный анализ цифровых изображений на основе методики окраски бромфеноловым синим по Микель-Кальво. С гистологических срезов 5 мкм толщиной при стандартных условиях освещения в проходящем свете делали цифровые копии изображений. С целью объективной оценки цвета изображения с помощью компьютерной программы GIMP (лицензия GPL, 2012) зондовым методом выполняли компьютерную микроспектрофотометрию в системе цвета Red, Green, Blue (RGB). В результате получили два параметра R и B, на основе которых получали коэффициент R/B, который использовали как меру ОМБ. Приведенные ниже рисунки с микрофотографиями гистологических изображений дают представление о том, как окрашиваются исследованные структуры при использованной гистохимической методике. Белки, содержащие «кислые» (карбонильные) группы, окрашиваются в красный цвет, а «щелочные» – в синий (аминогруппы). Если величина показателя R/B равняет-

ся «1», соотношение между «кислыми» и «щелочными» белками равное, а если показатель выше «1» – преобладают «кислые» белки [8, 9].

Сравнение между группами исследования делали с помощью двух методов – параметрического, используя двусторонний непарный критерий Стьюдента, и непараметрического с помощью критерия Манна-Уитни в среде компьютерной программы SPSS Statistics 17.0. Предварительно выполняли проверку на нормальность в выборках методом Шапиро-Вилки.

## РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

При макроскопическом исследовании нами не было выявлено заметных различий между группой интактных крыс и группами животных, которым вводили исследуемое вещество ZNM и ЛС сравнения мексидол. В группе животных, которым моделировали ХГГ, наблюдали увеличение расстояния между извилинами и изменение в их консистенции (стали мягче).

Гистологическая картина головного мозга интактных крыс соответствует данным литературы. Гистоструктура и цитоархитектоника мозга в этой группе сохранена. Периваскулярный и перикапиллярный отек имеет очаговый характер, наиболее выраженный вокруг капилляров молекулярного

и мультиформного слоев и вокруг глиальных клеток. Эти изменения, очевидно, являются результатом эвтаназии животных. Большинство нейронов всех слоев коры не имеют видимых изменений (таблица, рисунок 1 А, см. обложку журнала) [10].

В группе модельной патологии в коре головного мозга крыс обнаруживались выраженные структурные повреждения нейронов, со значительным количеством гиперхромных и пикнотических клеток. В отдельных нейронах проявлялась вакуолизация цитоплазмы. Также наблюдали увеличение количества расширенных капилляров. При этом количество нейронов снижалось в 1,7 раза относительно группы контроля. Наблюдался выраженный периваскулярный отек (таблица, рисунок 1 Б, см. обложку журнала).

На фоне применения вещества ZNM среднее количество нейронов в коре головного мозга возросло в 1,1 раза относительно группы ХГГ. Процент нейронов с признаками кариопикноза снизился в 1,3 раза, а процент капилляров коры головного мозга с признаками периваскулярного отека – в 1,2 раза относительно группы ХГГ. При этом отсутствовали явления дистрофических и дегенеративных изменений нейронов, наблюдалось умеренное кровенаполнение капилляров, что не уступает эффектам референс-ЛС мексидола (таблица, рисунок 1 Г, см. обложку журнала).

Таблица – Морфометрические и гистохимические показатели состояния коры головного мозга крыс при хронической гипобарической гипоксии (ХГГ) после применения производного 2-бензамида-2(2-оксодолин-3-илиден) уксусной кислоты и мексидола,  $M \pm m$ ,  $n=8$

Показатели	Группы исследования			
	Контроль, интактные животные	ХГГ	ХГГ с коррекцией мексидолом	ХГГ с коррекцией веществом ZNM
Среднее количество нейронов в 10000 мкм <sup>2</sup> коры головного мозга	88,0±1,4	54,0±1,2*	68,0±1,3 <sup>#</sup>	62,0±1,3 <sup>##^</sup>
Процент нейронов коры головного мозга с признаками кариопикноза, %	0,1±0,01	32,1±0,28*	22,1±0,20 <sup>#</sup>	25,0±0,24 <sup>##^</sup>
Процент капилляров коры головного мозга с признаками периваскулярного отека, %	0,4±0,01	98,0±0,13*	87,5±0,18 <sup>#</sup>	80,2±0,17 <sup>^</sup>
Коэффициент R/V в цитоплазме нейронов коры головного мозга, ус. ед.	0,98±0,041	1,48±0,07**	1,14±0,08 <sup>#</sup>	1,08±0,06 <sup>##</sup>

Примечание: \* – достоверность различий по сравнению с интактными животными при  $p < 0,01$ ; \*\* – достоверность различий по сравнению с интактными животными при  $p < 0,05$ ; # – достоверность различий по сравнению с группой модельной патологии (ХГГ) при  $p < 0,01$ ; ## – достоверность различий по сравнению с группой модельной патологии (ХГГ) ( $p < 0,05$ ); ^ – достоверность различий по сравнению с группой референс-ЛС мексидола ( $p < 0,01$ ); ^^ – достоверность различий по сравнению с группой референс-ЛС мексидола при  $p < 0,05$ .

При коррекции ХГТ ЛС сравнения мексидолом среднее количество нейронов в коре головного мозга возросло в 1,3 раза относительно группы ХГТ. Процент нейронов с признаками кариопикноза снизился в 1,5 раза, а процент капилляров коры головного мозга с признаками периваскулярного отека – в 1,1 раза относительно группы ХГТ (таблица, рисунок 1 В, см. обложку журнала).

При анализе содержания ОМБ в цитоплазме нейронов коры головного мозга было обнаружено, что при коррекции ХГТ вещество ZNM проявило положительный эффект по снижению интенсивности ОМБ. Под влиянием вещества ZNM коэффициент R/B снизился в 1,4 раза относительно группы контрольной патологии, в то время как ЛС сравнения мексидол снижал коэффициент R/B в 1,3 раза (таблица).

### ЗАКЛЮЧЕНИЕ

У крыс с моделью хронической гипобарической гипоксии вещество ZNM редуцирует отек головного мозга, уменьшает морфологические признаки поражения головного мозга за счет предупреждения развития нейродеструктивных процессов и патологических изменений в сосудах головного мозга. Вещество ZNM проявило положительный эффект по снижению интенсивности ОМБ. По своей церебропротекторной активности вещество ZNM не уступает эффектам референс-препарата мексидола.

### SUMMARY

Yu. S. Bukataru, I. I. Zamorskii,  
S. V. Kolesnik

EFFECT OF 2-BENZAMIDO-2-(2-  
OXOINDOLIN-3-ILIDEN) ACETIC ACID  
DERIVATIVE ON MORPHOMETRICAL  
AND HISTOCHEMICAL INDICES  
IN BRAIN OF RATS WITH CHRONIC  
HYPOBARIC HYPOXIA

Effect of 2-benzamido-2-(2-oxoindolin-3-yliden) acetic acid derivative under the symbol ZNM on morphometric and histochemical indices in brain cortex of rats with chronic hypobaric hypoxia was studied in the experiment on non-linear white male mature rats. It is established that compound ZNM reduces brain edema, decreases the morphologic signs of brain injury by the prevention of neurodestructive processes and pathological changes

of brain vessels. A positive antihypoxic effect of compound ZNM is confirmed by the decrease of oxidative modification of proteins intensity. By its cerebroprotective activity compound ZNM doesn't concede effect of proven antihypoxant reference-drug mexitol.

Keywords: chronic hypobaric hypoxia, oxidative modification of proteins, derivatives of 2-benzamido-2-(2-oxoindolin-3-yliden) acetic acid, mexitol.

### ЛИТЕРАТУРА

1. Основные механизмы формирования защиты головного мозга при адаптации к гипоксии / А. А. Солкин [и др.] // Вестник ВГМУ. – 2012. – Т. 11, №1 – С. 6–14.

2. Neuroprotective effect of melatonin in experimentally induced hypobaric hypoxia / C. Vornicescu [et al.] // Rom. J. Morphol. Embryol. – 2013. – 54 (4). – P. 1097–1106.

3. Jain, K. Hypobaric hypoxia imbalances mitochondrial dynamics in rat brain hippocampus / K. Jain [et al.] // Neurol Res Int. – 2015. – Vol. 2015, Article ID 742059. – 12 pp. – Режим доступа: <http://dx.doi.org/10.1155/2015/742059>. – Дата доступа: 15.06.2016.

4. Хайбуллина, З. Р. Состояние периферической крови при острой гипоксии в эксперименте / З. Р. Хайбуллина, Н. Т. Вахидова // Медицина: вызовы сегодняшнего дня: материалы междунар. науч. конф. (г. Челябинск, июнь 2012 г.). – Челябинск: Два комсомольца. – 2012. – С. 24–29.

5. Катунина, Н. П. Экспериментальное изучение противогипоксической активности новых производных 3-оксипридина в модели острой гипоксии с гиперкапнией и острой гипобарической гипоксии / Н. П. Катунина // Обзоры по клин. фармакол. и лек. терапии. – 2011. – Т. 9, № 1. – С. 69–72.

6. Zamorskii, I. I. Screening of derivatives of 2-(benzoylamino)(1-R-2-oxoindolin-3-ylidene)acetic acid under the conditions of acute hypobaric hypoxia / I. I. Zamorskii [et al.] // Вісник фармації. – 2016. – № 1. – С. 67–70.

7. Пасевич, С. П. Антиоксидантний потенціал похідних 3-оксипіридину за умов хронічної гіпоксичної гіпоксії / С. П. Пасевич, І. І. Заморський // Укр. біофарм. журн. – 2014. – № 5 (34). – С. 9–12.

8. Давиденко, І. С. Заходи стандартизації гістохімічної методики на окиснювальну модифікацію білків / І. С. Давиденко //

Укр. мед. альманах. – 2013. – № 3 (дода-ток). – С. 180–181.

9. Дубинина, Е. Е. Окислительная мо-дификация протеинов, ее роль при пато-логических состояниях / Е. Е. Дубинина, А. В. Пустыгина // Укр. біохім. журн. – 2008. – № 6. – С. 5–18.

10. Жиляев, С. О. Гістологічні зміни мозку та неврологічний дефіцит при ек-спериментальній черепно-мозкової травмі у щурів під впливом препаратів кверцети-ну / С. О. Жиляев, С. Ю. Штриголь, Р. Ф.

Абдулін // Укр. біофарм. журн. – 2012. – № 5–6. – С. 52–58.

**Адрес для корреспонденции:**

58002, Украина,  
г. Черновцы, Театральная пл., 2,  
ВГУЗ Украины «Буковинский государственный  
медицинский университет»,  
кафедра фармакологии,  
тел. +380 3722 35262,  
e-mail: yuliana.bukataru@mail.ru,  
Букатару Ю. С.

Поступила 14.10.2016 г.

С. С. Осочук

**ВЛИЯНИЕ ЛЬНЯНОГО МАСЛА НА СОСТАВ ЛИПОПРОТЕИНОВ ВЫСОКОЙ ПЛОТНОСТИ СПОРТСМЕНОВ ЦИКЛИЧЕСКИХ ВИДОВ СПОРТА**

**Витебский государственный ордена Дружбы народов медицинский университет**

*Обеспеченность организма полиненасыщенными жирными кислотами улучшает функционирование мембран и увеличивает работоспособность спортсменов. Полиненасыщенные жирные кислоты поступают в мембраны в составе липопротеинов высокой плотности. Целью работы было изучение влияния приёма льняного масла на липидно-белковый спектр липопротеинов высокой плотности спортсме-нов циклических видов спорта. Липопротеины высокой плотности выделяли мето-дом дифференциального ультрацентрифугирования. Содержание холестерина, три-ацилглицеридов определяли наборами фирмы Coraу. Количество белка определяли по Лоури. Спектр фосфолипидов определяли с применением тонкослойной хрома-тографии. Количество жирных кислот исследовали методом капиллярной газовой хроматографии. Установлено, что у спортсменов и лиц, не занимающихся спортом, происходят однотипные изменения в липидном спектре жирных кислот. У спор-тсменов, принимавших и не принимавших льняное масло, увеличение количества холестерина реализуется разными механизмами.*

**Ключевые слова:** полиненасыщенные жирные кислоты, липопротеины высокой плотности, спортсмены.

**ВВЕДЕНИЕ**

В современном обществе спорт вы-соких достижений является одним из ин-струментов политики, обеспечивающим продвижение национальных интересов государств на международном уровне, что предопределяет высочайшие требования к спортсменам как по физической, так и по психо-эмоциональной нагрузке. В усло-виях нарастающей конкуренции для под-готовки спортсменов высокого уровня квалификации необходимо учесть все фак-торы, предрасполагающие к получению максимально возможного результата, не

задействовав при этом методы, запрещен-ные всемирной антидопинговой ассоциа-цией (ВАДА). Одной из таких составляю-щих является адаптированное к нагрузкам питание спортсменов. К сожалению, в на-стоящее время этому вопросу уделяется незаслуженно мало внимания, о чем сви-детельствует отсутствие достаточно обо-снованных научных данных, позволяющих рекомендовать рационы питания для пред-ставителей различных видов спорта [1]. Не заслуженно мало внимания уделяется потреблению  $\omega 3$  и  $\omega 6$  полиненасыщенных жирных кислот (ПНЖК), дефицит кото-рых достигает в некоторых видах спор-



Рисунки к статье ЕА. Дикусар, А. Л. Пушкарчук, А. Г. Солдатов, С. А. Кутень, С. Г. Стёпин  
 «Квантово-химическое моделирование строения метотрексатсодержащих фуллереноловых  
 радионуклидных агентов терапии онкологических заболеваний» (С. 52-56)

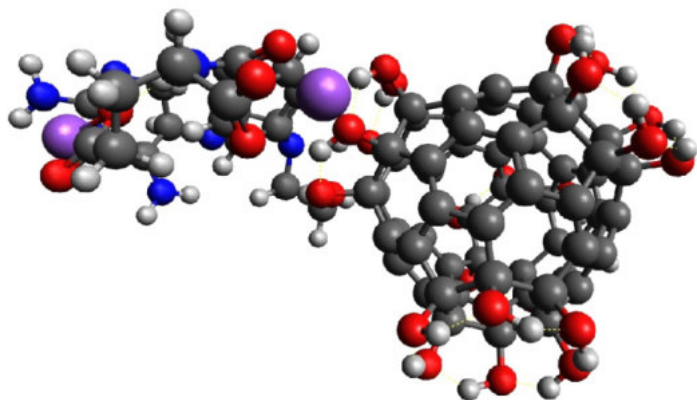


Рисунок 2 – Квантово-химическая модель  
 «пустого» бисфуллеренолового  
 метотрексатсодержащего наноконтейнера 4  
 для нанокапсулирования радионуклидов  
 ( $^{59}\text{Fe}$  1,  $^{210}\text{Po}$  2,  $^{222}\text{Rn}$  3)

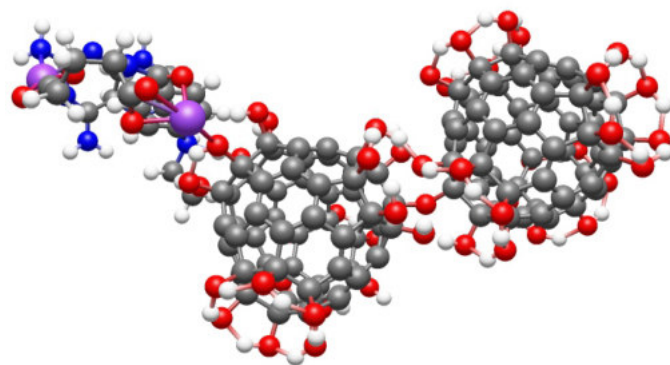
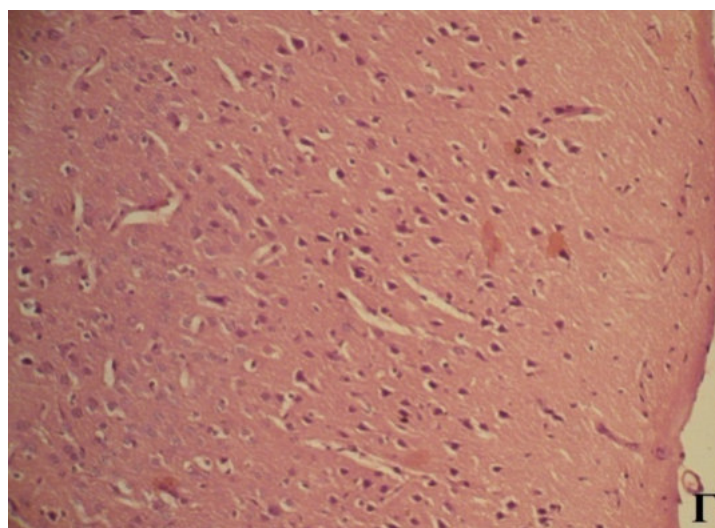
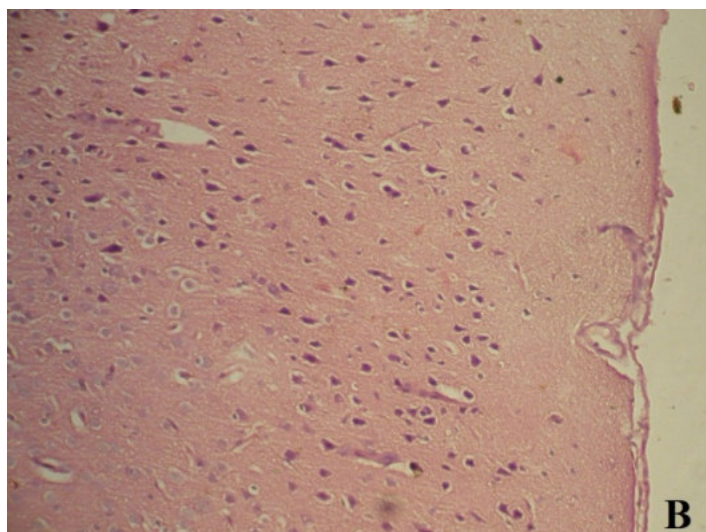
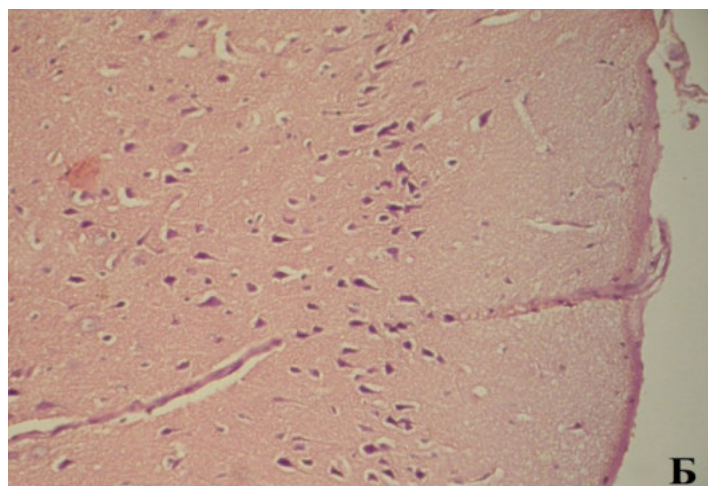
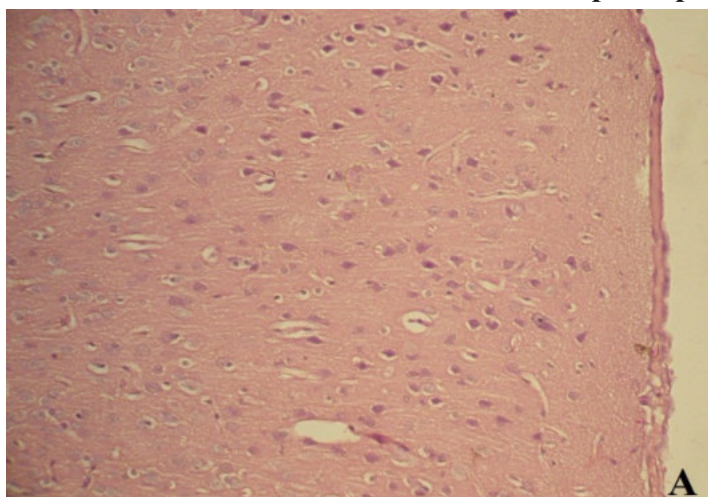


Рисунок 3 – Квантово-химическая модель  
 «пустого» бисфуллеренолового  
 метотрексатсодержащего наноконтейнера 8  
 для нанокапсулирования радионуклидов  
 ( $^{59}\text{Fe}$  1,  $^{210}\text{Po}$  2,  $^{222}\text{Rn}$  3)

Рисунок к статье Ю. С. Букатару, И. И. Заморский, С. В. Колесник «Влияние производного  
 2-бензамида-2(2-оксодолин-3-илиден) уксусной кислоты на морфометрические и гистохимические  
 показатели состояния головного мозга крыс при хронической гипобарической гипоксии» (С. 62-66)



А – головной мозг интактной крысы. Б – головной мозг крысы группы хронической гипобарической гипоксии. Выраженный периваскулярный отек, хроматолиз, вакуолизация цитоплазмы. В – головной мозг крысы группы референс-ЛС мексидола. Очаги периваскулярного отека. Г – головной мозг крысы группы ZNM. Очаги периваскулярного отека. Окраска гематоксилином и эозином.  $\times 100$ .

Рисунок 1 – Микрофотографии гистологических препаратов головного мозга крыс